

DER EINFLUSS VERSCHIEDENER DIURETICA AUF DIE
RENALE WASSER- UND SALZAUSSCHIEDUNG DURSTENDER RATTEN UND
AUF DIE KARBOANHYDRATASE-AKTIVITÄT DES NIERENGEWEBES

VON
INGEBORG LIEBKE

Mainz 1963



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554405_0089

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz
Direktor: Professor Dr.med. G. KUSCHINSKY

DER EINFLUSS VERSCHIEDENER DIURETICA AUF DIE
RENALE WASSER- UND SALZAUSSCHIEDUNG DURSTENDER RATTEN UND
AUF DIE KARBOANHYDRATASE-AKTIVITÄT DES NIERENGEWEBES

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

INGEBORG LIEBKE

aus Breslau

1963

Dekan: Professor Dr. Dr. K. Wagner
Referent: Professor Dr. med. G. Kuschinsky
Tag der mündl. Prüfung: 11. November 1963



GESAMTHERSTELLUNG: Ditters Bürodienst, Mainz
Augustinerstraße 64-66
Telefon 24293

MEINEN ELTERN

GEWIDMET

EINLEITUNG

Zur Untersuchung der Wirksamkeit von Diuretica hat sich die Ratte als sehr brauchbares Testobjekt erwiesen: außer ihrer Bewährung bei labortechnischen Maßnahmen läßt die genetische Reinerhaltung der Ratte eine günstigere Auswertung zu.

Auf Gaben von isotonischer Kochsalzlösung erhält man bei der Ratte (BRUNNER, KUSCHINSKY, PETERS 1956) ähnliche Wirkungen wie beim Menschen, nämlich eine geringere Diuresebeschleunigung als auf Gabe von Wasser (BLOMERT et al. 1951), im Gegensatz zum Hund, bei dem durch isotonische Kochsalzlösung eine Diuresesteigerung hervorgerufen wird.

Die Frage, ob mit Wasser belastete Ratten befriedigende Ergebnisse für die nachfolgende Anwendung von Diuretica liefern, muß einerseits dahingehend beantwortet werden, daß Mensch und Tier normalerweise auch "gewässert" werden. Wasserbelastung bei Tieren stellt aber andererseits eine schlechte Imitation der Ödeme beim Menschen dar. Gegen die Wasserbelastung von Tieren spricht die daraus resultierende Steigerung der Diurese, die die Wirkung des Diureticum verdeckt. Bei durstenden Tieren ist die Diurese herabgesetzt, die Ausscheidungsmengen der einzelnen Tiere unterscheiden sich nicht so intensiv, die Streuung ist geringer. Die Wässerung führt zur Störung des Konzentrationsvermögens, ein Faktor, der die Diurese beeinflusst (KUSCHINSKY 1959).

Als wirksames Diureticum hat sich das Acetazolamid (Diamox^R) erwiesen. Bei der Erforschung der Sulfonamide entdeckte man die Wirkung einzelner Verbindungen auf die Nierenfunktion, so z. B. den Anstieg des pH-Wertes und die Bicarbonatausscheidung im Urin auf Grund der Hemmung der Karboanhydratase (KAH).

Acetazolamid ist das Sulfonamid, das diese Wirkung am stärksten zeigt. Versuche, die KAH-Wirkung auf histochemischem Wege nachzuweisen, wurden von Kurata (KURATA 1953) in einer Arbeit ausführlich dargestellt. Diese Arbeit regte Braun-Falco (BRAUN-FALCO 1955a) seinerseits an, in einer modifizierten Methode nach Kurata die KAH histochemisch darzustellen. In einer weiteren Arbeit befaßte sich BRAUN-FALCO (1955b) mit der Frage der nachweisbaren Verminderung der KAH-Aktivität im Nierengewebe durch Acetazolamid. Er kommt in seiner Arbeit zu dem Schluß, daß mit der histochemischen Methode kein Nachweis der KAH-Hemmung durch Acetazolamid zu führen sei.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, den Nachweis der KAH-Aktivität im Nierengewebe von Ratten und ihrer Hemmung durch Acetazolamid mit Hilfe einer Indikatormethode zu führen.

METHODIK

Eine gleiche Zahl von männlichen und weiblichen Ratten im Gewicht von 180 bis 300 g erhielt ein bis zwei Tage vor dem Versuch das übliche Trinkwasser und 0,9%ige Kochsalzlösung ad libitum als Trinkflüssigkeit neben dem Körnerfutter verabreicht. Für einen Versuch wurden jeweils 32 bis 40 Tiere verwandt, zur einen Hälfte weiblich, zur anderen Hälfte männliche Tiere. Vom Beginn bis zur Beendigung des Versuchs erhielten die Tiere weder feste noch flüssige Nahrung. Das zu testende Pharmakon wurde intravenös verabreicht. Unmittelbar vor der intravenösen Injektion wurde die Harnblase durch Druck entleert, anschließend wurden die Ratten in Diuresekäfige gesetzt. Der Harn wurde in graduerten Reagenzgläsern aufgefangen, stündlich abgelesen und in zwei Sammelperioden - vom Versuchsbeginn bis einschließlich der 3. Stunde, sowie von der 4. Stunde bis einschließlich der 6. bzw. 9. Stunde - gesammelt. Die Kontrolltiere erhielten unter gleichen Futterbedingungen anstelle des Diureticum eine 0,9%ige Kochsalzlösung intravenös injiziert.

Drei Gruppen von Diuretica wurden untersucht:

1. Purinabkömmlinge:

Coffein, 1, 3, 7, - Trimethylxanthin, in den Dosen 12,5 und 50,0 mg/kg Ratte, enthalten in 2 ml destilliertem Wasser.

Aminophyllin (Euphyllin^R), bestehend zu 80 % aus 1, 3, 7, - Trimethylxanthin und zu 20 % aus Äthylendiamin, in den Dosen 12,5 und 50,0 mg/kg Ratte, enthalten in 2 ml destilliertem Wasser.

2. Quecksilberdiuretica:

Mersalyl (Salyrgan^R) und Chlormerodrin (Neohydrin^R); 3-Chlor-mercuri-2-methoxy-propyl-harnstoff. Beide Diuretica wurden jeweils in der Dosierung von 2 mg und 5 mg Hg/kg Ratte, enthalten in 2 ml destilliertem Wasser, angewandt. Außerdem wurden parallel dazu die gleichen Dosierungen mit Theophyllin-Zusatz im Verhältnis 1 Mol Hg zu 1 Mol Theophyllin verabreicht.

3. Sulfonamide:

Nirexon^R, Diphenyl-methan-4,4'-disulfonamid und Acetazolamid (Diamox^R), 2-Acetylamino-1,3,4,-Thiadiazol-sulfonamid.

Diese Diuretica wurden in den Dosierungen 5.0, 10.0, 20.0 und 50.0 mg/kg Ratte, enthalten in 2 ml destilliertem Wasser unter Zusatz von NaOH, intravenös injiziert. Die Kontrolltiere erhielten anstelle der Diuretica eine Pufferlösung nach CLARK und LUBS (zitiert bei Geigy 1955) mit einem pH-Wert von 9,1, der dem pH-Wert des gelösten Acetazolamid und Nirexon entsprach.

In Parallelversuchen wurde Acetazolamid per os gegeben. Acetazolamid wurde ungelöst in Traganth-Schleim verrührt in der Dosierung von 80 mg/kg den Ratten mit einer Schlundsonde verabreicht. Unterschiede ergaben sich nicht gegenüber der i.v.-Verabreichung.

Der Verdunstungsverlust vom Harn, der in einem früheren Vorversuch mit 15% ermittelt worden war, wurde durch den Faktor 1,17 entsprechend korrigiert. Die Harnmenge der einzelnen Sammelperioden wurde auf mindestens 4 ml mit destilliertem Wasser aufgefüllt.

Bestimmt wurden:

1. die Harnmenge,
2. die Konzentration von Natrium und Kalium mit Flammenphotometern von Beckman oder Kipp,
3. die Chlorid-Konzentration, mercurimetrisch nach der Methode von KUSCHINSKY und LANGECKER,
4. die Titrationsacidität nach der Methode von HENDERSON und PALMER.

Aus diesen Werten wurden die Ausscheidungen in ml/kg und Stunde bzw. mÄq/kg und Std. berechnet.

Von allen Versuchsgruppen wurden jeweils die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die mittleren Fehler der Mittelwerte ($s_{\bar{x}}$) ausgerechnet. Die Signifikanz des Unterschiedes zweier Werte wurde durch den T-Test geprüft. Die Ausrechnung erfolgte nach SNEDECOR.

Für den Nachweis der KAH-Aktivität und ihrer Hemmung durch Acetazolamid bzw. Nirexon wurde die Indikatormethode nach GLOSTER und PERKINS angewandt. Sie beruht darauf, daß mit Hilfe von Indikatoren eines bestimmten pH-Bereiches durch Farbumschlag innerhalb einer genau bemessenen Zeit eine sichere Angabe über das pH der zu testenden Lösung gemacht werden

kann. Wir haben die von GLOSTER und PERKINS angegebene Methode dahingehend deändert, daß wir anstelle des Indikators Bromthymolblau eine 0,04 %ige Lösung des Indikators Phenolrot verwendeten, um den gleichen Farbton, wie ihn die Standardlösung aufwies, zu erzielen, was mit Bromthymolblau nicht gelang. In mehreren Versuchen stellten wir Pufferlösungen (nach CLARK und LUBS mit pH-Wert 9,1) und Acetazolamidlösungen in steigenden Verdünnungen her, denen wir eine genau abgemessene Menge eines Nierenextraktes normaler Ratten zusetzten, und prüften diese Verdünnungen in ihrer Hemmwirkung auf die im Extrakt enthaltene KAH. In weiteren Versuchen ermittelten wir die Konzentration des Nierenextraktes, die sich für die Versuche als optimal herausstellte. Eine Verdünnung des Nierenextraktes 1 : 25 (d.h. 1 Teil Extrakt auf 25 Teile CO₂-freies, glasdestilliertes Wasser) erwies sich dabei als günstigste Konzentration für unsere Versuche. Der Extrakt wurde auf folgende Weise gewonnen:

Nach Tötung der Ratte wurde die Niere sofort entfernt, gewogen, in einer Porzellanschale unter Zusatz von geglühtem Seesand und einer genau abgemessenen Menge physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 10 zerrieben, anschließend wurde die ganze Mischung 30 Min. zentrifugiert. 1 ml der überstehenden Flüssigkeit des Zentrifugates wurde mit CO₂-freiem, glasdestilliertem Wasser im Verhältnis 1 : 25 weiter verdünnt, um die oben erwähnte Konzentration zu erhalten. Bei den Hauptversuchen wurde Acetazolamid in den Dosierungen 1.0, 2.0, 10.0, 20.0 und 50.0 mg/kg Ratte intravenös injiziert. Die Entnahme der ersten Niere erfolgte in Äthernarkose eine Stunde nach der Injektion, die zweite Niere wurde nach der 3. Std. post injectionem sofort nach Tötung der Ratte entnommen. In einem weiteren Versuch wurde die Hemmwirkung von Acetazolamid auf die KAH zu verschiedenen Zeiten nach Gabe der Substanz geprüft. Die Kontrolltiere erhielten keinerlei Substanz verabreicht, da sich aus zahlreichen Vorversuchen ergeben hatte, daß Ratten, die mit Kochsalz- oder Pufferlösung vorbehandelt waren, die gleichen Versuchsergebnisse lieferten wie unbehandelte Ratten.

Die Versuche wurden von Dezember 1956 bis September 1958 durchgeführt.

ERGEBNISSE

Coffein 12.5, 25.0 und 50.0 mg/kg i.v. bewirkte bei durstenden Ratten in der 1. bis 3. Std. nach Versuchsbeginn sowie in der 4. bis 6. Std. weder eine gesteigerte Harn- noch eine Salzausscheidung (vergl. Tab.1).

Bei den Versuchen mit Euphyllin^R war sowohl nach der 12.5 mg/kg-Dosis als auch nach der 50 mg/kg-Dosis während der 1.-3. Std. eine signifikante Steigerung der diuretischen Wirkung gegenüber den Kontrolltieren zu erkennen (Tab.2). Die Natriurese war nur bei der 50 mg/kg-Dosis signifikant gesteigert. Einen signifikanten Unterschied wies auch die Chloridausscheidung bei der höheren Dosis auf. Kein Unterschied gegenüber den Kontrolltieren konnte in der Kaliumausscheidung bei den beiden Dosierungen festgestellt werden.

Mersalyl 5 mgHg/kg mit und ohne Theophyllin bewirkte in der ersten bis dritten Std. eine signifikante Steigerung der Harnausscheidung. Mit der 2 mgHg/kg-Dosis war eine Wirkung einer vermehrten Diurese weder in der 1.-3. noch in der 4.-9. Std. zu erreichen (vergl. Tab.3 und Abb.2). Deutlich signifikant war die Natriumausscheidung nach der 2 mg und 5 mg Hg/kg-Dosis mit Theophyllinzusatz, jedoch nur in der 1.-3. Std. Eine eben signifikante Steigerung der Kaliurese wurde in der 4.-9. Std. nach der 5 mg Hg/kg-Dosis mit und ohne Theophyllin beobachtet. Ähnlich wie die Natriumausscheidung verhielt sich die Chloridausscheidung nach der 2 mg und 5 mg Hg/kg-Dosis mit mit Theophyllinzusatz.

Versuche mit Chlormerodrin (Tab.4 und Abb.1) zeigten, daß die Harnausscheidung bei den Dosierungen 2 mg und 5 mg Hg/kg mit Theophyllin und 5 mg Hg/kg ohne Theophyllin signifikant gesteigert war in der ersten Sammelperiode (1.-3. Std.). Ähnlich verhielt es sich mit der Natriurese, auch hier war bei den drei oben genannten Dosierungen eine deutlich signifikante Steigerung zu verzeichnen. Die Chloridausscheidung war bei allen Dosierungen in der 1.-3. Std. deutlich signifikant gesteigert gegenüber den Kontrolltieren. Eine signifikante Steigerung der Kaliumausscheidung war nur bei den Dosierungen 5 mg Hg/kg mit und ohne Theophyllin in der 1.-3. Std. zu erkennen.

Die renale Säureausscheidung wurde durch Chlormerodrin nur bei der Dosis 5 mg Hg/kg ohne Theophyllin gehemmt.

Acetazolamid 5, 10, 20 und 50 mg/kg bewirkte eine deutlich signifikante Steigerung der Harnausscheidung in der 1.-3. Std. Parallel dazu ver-

hielt sich die Natriurese; auch hier war nach allen Dosierungen eine deutlich signifikante Steigerung festzustellen (Tab.5 und Abb.4).

Über die 3. Std. hinaus wurde keine Wirkung mehr erreicht. Signifikante Werte der Kaliurese erhielten wir nur bei der Dosis 20 und 50 mg/kg.

Die Ausscheidung von H^+ -Ionen war bei allen oben angegebenen Dosierungen von Acetazolamid deutlich gehemmt. Keinerlei Einfluß übten die verschiedenen Dosierungen auf die Chloridausscheidung aus; ihre Werte waren denen der Kontrolltiere gleich.

Annähernd gleiche Ergebnisse waren nach der i.v.-Injektion von Nirexon erhalten worden (WIRTH 1957), vergl. Tab.6 und Abb.3. Bis auf die niedere Dosis von 5 mg/kg war die Harnausscheidung nach den Dosierungen 10, 20 und 50 mg/kg deutlich signifikant gesteigert gegenüber den Kontrolltieren. Auch hier war die Wirkung wie bei Acetazolamid nach der 3. Std. bereits aufgehoben. Die Natriumausscheidung nach 5, 10, 20 und 50 mg/kg Nirexon verhielt sich völlig parallel der Natriurese bei Acetazolamid; sie war bei allen Gruppen signifikant gesteigert.

Eine deutliche Steigerung erfuhr die Kaliumausscheidung nach der 20 und 50 mg/kg-Dosis von Nirexon, analog zu Acetazolamid. Die Chlorurese war durch Nirexon gegenüber den Kontrolltieren nicht unterschieden. Die Säureausscheidung war auch hier erheblich gehemmt.

Zusammenfassend ist jedoch zu sagen, daß die Harn- und Natriumausscheidung nach Nirexon niemals die hohen Werte erreichte, wie es nach Acetazolamid der Fall war. (Vergl. dazu die Abb. 3 und 4).

Die Hemmung der Karboanhydratase (KAH) im Nierengewebe durch KAH-Hemmstoffe ist durch die Abb.5 und 6 veranschaulicht.

Die KAH-Aktivität eines unbehandelten Kontrolltieres (K) (s. Abb.5), dessen Nierenextrakt noch die volle Wirkung des Ferments enthält, unterscheidet sich kaum von der eines Tieres, das eine i.v.-Injektion von 1 mg/kg Nirexon bzw. Acetazolamid erhalten hat. Eine deutliche Hemmwirkung auf die KAH läßt sich bereits nach der i.v.-Injektion von 2 mg/kg Acetazolamid ablesen, mit steigender Dosierung nimmt die Wirkung der KAH-Hemmung zu und hat ihren Höhepunkt mit der 50 mg/kg-Dosis von Acetazolamid erreicht. Diese maximale Hemmung fällt mit dem Zeitwert des Leerwertes (L) zusammen, dieser Leerwert enthält keine KAH. Die alkalische Pufferlösung (Veronalpuffer pH 8,4) wurde durch Zugabe von CO_2 neutralisiert. Die zu untersuchende alkalische Lösung hatte infolge der maximalen Acetazolamidwirkung (50 mg/kg)

ein pH von 9,1, das unter Zusatz von CO_2 zum Neutralbereich hin verschoben wurde. Beide Lösungen erreichten den gleichen pH-Wert (6,3), der durch die gleiche Farbe des Indikators (Standardlösung / Phosphatpuffer nach SÖRENSEN = pH 6,3) erkennbar war. Der zeitliche Verlauf der Neutralisation war unter beiden Bestimmungen gleich. Bei Acetazolamiddosen (1 bis 20 mg/kg), die noch keine vollständige Hemmung der KAH bewirkten, war die Zeit, die zur Neutralisation der Lösungen durch CO_2 -Zufuhr benötigt wurde, entsprechend kürzer (s. Abb.5). Nach der i.v.-Injektion von Nirexon ist erst mit 5 mg/kg-Dosis eine Hemmwirkung zu erkennen, die nächsthöheren Dosierungen bewirken einen langsamen Anstieg der KAH-Hemmwirkung, der aber in keinem Fall die Hemmwirkung von Acetazolamid erreicht. In Abb.6 ist ein Vergleich zwischen dem Nierenextrakt einiger mit Acetazolamid (20 mg/kg) behandelten Ratten und dem einiger mit Chlormerodrin (4,5 mg/Hg/kg) behandelten Ratten dargestellt.

Der Zeitwert der Kontrolltiere, also Nierenextrakt mit voll wirksamer KAH, entspricht völlig dem Zeitwert der mit Chlormerodrin behandelten Tiere; eine KAH-Hemmwirkung ist bei letzteren Tieren nicht festzustellen.

Erklärung zu den Tabellen 1 bis 6

Wasser-, Elektrolyt- und Säureausscheidung im Harn durstender Ratten:

Angegeben sind die Mittelwerte mit den zugehörigen mittleren Fehlern $\bar{x} \pm s\bar{x}$ von einer bzw. zwei Harnsammelperioden (1.-3. und 4.-6. Stunde nach der Injektion). Die Kontrollgruppen erhielten 0,9%ige Kochsalzlösung. Anzahl der Versuchstiere einer Gruppe ist in Klammern gesetzt. Die Signifikanz der Unterschiede zwischen den mit dem Diureticum behandelten Gruppen und den Kontrolltieren sind bei den betreffenden Werten mit * = $P < 0,05$, ** = $P < 0,01$ und *** = $P < 0,001$ bezeichnet.

	Kontrolle (7)	Coffein 50 mg/kg (6)	Coffein 25,0 mg/kg (6)	Coffein 12,5 mg/kg (6)
H ₂ O	2,3 ± 0,7	4,1 ± 1,1	4,1 ± 0,9	2,3 ± 0,9
ml/kg und Std.	0,9 ± 0,1	1,2 ± 0,7	1,3 ± 0,4	1,0 ± 0,2
Na ⁺	0,15 ± 0,05	0,17 ± 0,06	0,14 ± 0,03	0,09 ± 0,02
mÄq/kg und Std.	0,04 ± 0,01	0,10 ± 0,04	0,13 ± 0,06	0,05 ± 0,01
K ⁺	0,09 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,15 ± 0,06
mÄq/kg und Std.	0,05 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,06 ± 0,01	0,06 ± 0,01
Cl ⁻	0,25 ± 0,06	0,29 ± 0,03	0,27 ± 0,06	0,23 ± 0,05
mÄq/kg und Std.	0,10 ± 0,03	0,10 ± 0,03	0,15 ± 0,06	0,10 ± 0,03
Tit. - Acidität	+ 0,03 ± 0,01	- 0,02 ± 0,01	+ 0,01 ± 0,01	+ 0,02 ± 0,01
mÄq/kg und Std.	+ 0,02 ± 0,01	+ 0,02 ± 0,01	+ 0,02 ± 0,01	+ 0,04 ± 0,01

Tabelle 1.

Einfluß von Coffein auf die Wasser-, Elektrolyt- und Säureausscheidung durstender Ratten über 2 Harnsammelperioden (1.-3. und 4.-6. Stunde).

Weitere Erklärung s. Text vor Tabelle 1 auf S. 7.

	Kontrolle (7)	Euphyllin 12,5 mg/kg (6)	Euphyllin 50,0 mg/kg (6)
H ₂ O		***	***
ml/kg und Std.	2,4 ± 0,3	8,0 ± 1,2	6,2 ± 0,7
	3,4 ± 0,8	3,0 ± 0,7	3,8 ± 0,7
Na ⁺			***
mÄq/kg und Std.	0,27 ± 0,11	0,44 ± 0,10	0,80 ± 0,09
	0,33 ± 0,08	0,23 ± 0,09	0,41 ± 0,09
K ⁺			
mÄq/kg und Std.	0,13 ± 0,01	0,17 ± 0,03	0,14 ± 0,08
	0,26 ± 0,04	0,15 ± 0,02	0,22 ± 0,04
Cl ⁻			***
mÄq/kg und Std.	0,40 ± 0,04	0,50 ± 0,09	0,76 ± 0,13
	0,45 ± 0,07	0,30 ± 0,07	0,50 ± 0,08

Tabelle 2. Einfluß von Euphyllin auf die Wasser- und Elektrolytausscheidung durstender Ratten über 2 Harnsammelperioden (1.-3. und 4.-6. Std.)

Weitere Erklärung s. Text vor Tabelle 1 auf S. 7.

	Kontrolle (7)		Mersalyl ohne Theophyllin		Mersalyl mit Theophyllin	
	4,4 ± 0,9	7,0 ± 0,9	2,0 mg/kg (7)	5,0 mg/kg (7)	2,0 mg/kg (7)	5,0 mg/kg (7)
H ₂ O				+		***
ml/kg und Std.	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,2	2,4 ± 0,3	1,0 ± 0,2	1,1 ± 0,4
Na ⁺					***	***
mÄq/kg und Std.	0,19 ± 0,04	0,33 ± 0,07	0,55 ± 0,17	0,53 ± 0,09	1,09 ± 0,21	
	0,10 ± 0,03	0,09 ± 0,02	0,29 ± 0,06	0,08 ± 0,02	0,24 ± 0,04	
K ⁺						
mÄq/kg und Std.	0,14 ± 0,04	0,16 ± 0,04	0,25 ± 0,05	0,19 ± 0,05	0,40 ± 0,13	
	0,08 ± 0,01	0,18 ± 0,04	0,34 ± 0,05	0,09 ± 0,02	0,30 ± 0,04	
Cl ⁻					***	***
mÄq/kg und Std.	0,40 ± 0,06	0,60 ± 0,08	0,46 ± 0,10	0,74 ± 0,07	0,97 ± 0,13	
	0,18 ± 0,03	0,20 ± 0,05	0,10 ± 0,02	0,17 ± 0,03	0,14 ± 0,01	
Titration - Acidität						
mÄq/kg und Std.	+0,04 ± 0,02	+0,07 ± 0,01	+0,01 ± 0,01	+0,07 ± 0,02	-0,01 ± 0,01	
	+0,04 ± 0,01	+0,08 ± 0,04	+0,06 ± 0,02	+0,07 ± 0,01	+0,10 ± 0,02	

Tabelle 3.

Einfluß von Mersalyl mit und ohne Theophyllin auf die Wasser-, Elektrolyt- und Säureausscheidung durstender Ratten über 2 Harnsammelperioden (1.-3. und 4.-6. Stunde).

Weitere Erklärungen s. Text vor Tabelle 1 (S. 7).

Chlormerodrin ohne Theoph.		Chlormerodrin mit Theophyllin	
Kontrolle (8)	2,0 mg/kg (8)	5,0 mg/kg (8)	2,0 mg/kg (8) 5,0 mg/kg (8)
H ₂ O	1,9 ± 0,5	3,4 ± 0,6	7,4 ± 0,5 5,0 ± 0,5 8,7 ± 1,2 ***
ml/kg und Std.	1,1 ± 0,2	1,3 ± 0,4	3,7 ± 0,5 1,5 ± 0,4 3,6 ± 0,5 ***
Na ⁺	0,08 ± 0,02	0,23 ± 0,06	0,60 ± 0,05 0,30 ± 0,03 0,90 ± 0,20 ***
m Äq/kg und Std.	0,10 ± 0,04	0,10 ± 0,06	0,31 ± 0,07 0,11 ± 0,06 0,36 ± 0,05
K ⁺	0,15 ± 0,02	0,14 ± 0,03	0,32 ± 0,03 0,16 ± 0,02 0,44 ± 0,01 ***
m Äq/kg und Std.	0,13 ± 0,03	0,11 ± 0,03	0,32 ± 0,04 0,11 ± 0,01 0,29 ± 0,03 ***
Cl ⁻	0,22 ± 0,01	0,35 ± 0,02	0,42 ± 0,03 0,42 ± 0,02 0,66 ± 0,12 ***
m Äq/kg und Std.	0,12 ± 0,01	0,20 ± 0,01	0,07 ± 0,01 0,13 ± 0,02 0,07 ± 0,01
Titration - Acidität	+0,03 ± 0,01	+0,03 ± 0,01	-0,04 ± 0,01 +0,02 ± 0,01 +0,03 ± 0,02
m Äq/kg und Std.	+0,07 ± 0,01	+0,04 ± 0,01	+0,02 ± 0,01 +0,04 ± 0,01 +0,02 ± 0,01

Tabelle 4.

Einfluß von Chlormerodrin mit und ohne Theophyllin auf die Wasser-, Elektrolyt und Säureausscheidung durstender Ratten über 2 Harnsammelperioden (1.-3. und 4.-6. Stunde).

Weitere Erklärungen s. Text vor Tabelle 1 (S. 7).

	Kontrolle (12)	Acetazolamid 5,0 mg/kg (8)	Acetazolamid 10,0 mg/kg (8)	Acetazolamid 20,0 mg/kg (9)	Acetazolamid 50,0 mg/kg (9)
H ₂ O					
ml/kg und Std.	4,0 ± 0,4	*** 9,0 ± 1,3	*** 10,0 ± 1,0	*** 10,2 ± 1,0	*** 12,5 ± 1,0
Na ⁺					
mÄq/kg und Std.	0,25 ± 0,04	*** 0,90 ± 0,14	*** 1,04 ± 0,10	*** 1,13 ± 0,13	*** 1,45 ± 0,12
K ⁺					
mÄq/kg und Std.	0,11 ± 0,02	0,21 ± 0,03	0,24 ± 0,03	*** 0,38 ± 0,04	*** 0,48 ± 0,03
Cl ⁻					
mÄq/kg und Std.	0,27 ± 0,03	0,35 ± 0,10	0,28 ± 0,05	0,26 ± 0,07	0,24 ± 0,06
Tit. - Acidität					
mÄq/kg und Std.	+0,01 ± 0,01	*** -0,10 ± 0,01	*** -0,11 ± 0,01	*** -0,11 ± 0,01	*** -0,17 ± 0,02

Tabelle 5. Einfluß von Acetazolamid auf die Wasser-, Elektrolyt- und Säureausscheidung durstender Ratten über 1 Harnsammelperiode (1. -3. Stunde).

Weitere Erklärung s. Text vor Tabelle 1 (S. 7).

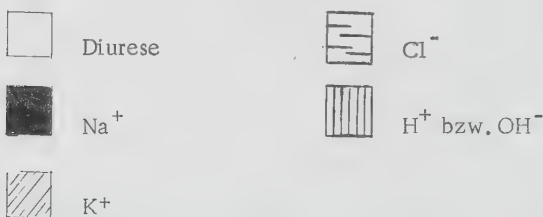
	Kontrolle (12)	Nirexon 5,0 mg/kg (8)	Nirexon 10,0 mg/kg (8)	Nirexon 20,0 mg/kg (9)	Nirexon 50,0 mg/kg (9)
H ₂ O ml/kg und Std.	4,0 ± 0,4	5,8 ± 0,8	*** 7,6 ± 1,0	*** 7,0 ± 0,3	*** 8,9 ± 1,1
Na ⁺ mÄq/kg und Std.	0,25 ± 0,04	*** 0,58 ± 0,08	*** 0,74 ± 0,10	*** 0,75 ± 0,07	*** 1,00 ± 0,15
K ⁺ mÄq/kg und Std.	0,11 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,21 ± 0,04	*** 0,30 ± 0,04	*** 0,43 ± 0,04
Cl ⁻ mÄq/kg und Std.	0,27 ± 0,03	0,30 ± 0,03	0,21 ± 0,03	0,25 ± 0,04	0,25 ± 0,02
Titration - Acidität mÄq/kg und Std.	+0,01 ± 0,01	*** -0,07 ± 0,01	*** -0,07 ± 0,02	*** -0,11 ± 0,01	*** -0,15 ± 0,01

Tabelle 6. Einfluß von Nirexon auf die Wasser-, Elektrolyt- und Säureausscheidung durstender Ratten über eine Harnsammelperiode (1.-3. Stunde).
 Weitere Erklärung s. Text vor Tabelle 1 (S. 7).

Erklärung zu den Abbildungen 1 bis 4 der folgenden Seiten:

Angegeben sind die Mittelwerte der Wasser- und Elektrolytausscheidungen über eine Harnsammelperiode von 3 Stunden nach der Injektion des Diureticum in ml/kg und Std.

Der Maßstab wurde so gewählt, daß eine Ausscheidung von 0,15 mÄq Na^+ oder Cl^- gleich 1 ml Harn entspricht, so daß bei Ausscheidung einer isotoni-schen NaCl-Lösung die Säule für die Wasser-, Na^+ - und Cl^- -Ausscheidung gleich hoch wären. Die Säulen bezeichnen $\bar{x}$, die Haken $\bar{s}_x$. Die Kontrollgruppen erhielten 0,9%ige NaCl-Lösung. Anzahl der Versuchstiere in der je-weiligen Gruppe in Klammern. Die Signifikanz der Unterschiede zwischen den mit dem Diureticum behandelten Gruppen und den mit der NaCl-Lösung behandelten Kontrollgruppen sind oberhalb der Säulen mit *P = < 0,05, **P = < 0,01 und ***P = < 0,001 bezeichnet.



Erklärung zu Dosis/Zeit-Kurve der Karboanhydratase-Hem-mung eine Stunde nach Injektion von Acetazolamid und Nirexon nach der Indikatormethode (Abb. 5).

Auf der Abszisse ist die Dosis in mg/kg angegeben. K=unbehandelte Kontroll-tiere. In Klammern steht die Anzahl der Tiere, die mit der gleichen Dosis be-handelt wurde. Auf der Ordinate ist die Zeit, die zur Neutralisation benötigt wurde, angegeben. L = Leerwert oder Blindwert einer 0,9%igen Kochsalzlösung.

Dosis/Zeit-Kurve von Chlormerodrin (Abb. 6).
(vgl. BRUNNER, H. 1959)

Auf der Abszisse sind K = Kontrolltiere, Chlorm. = mit Chlormerodrin behan-delte Tiere, L = Leerwert, sowie A = mit Acetazolamid behandelte Tiere an-gegeben. Auf der Ordinate die zur Neutralisation benötigte Zeit.

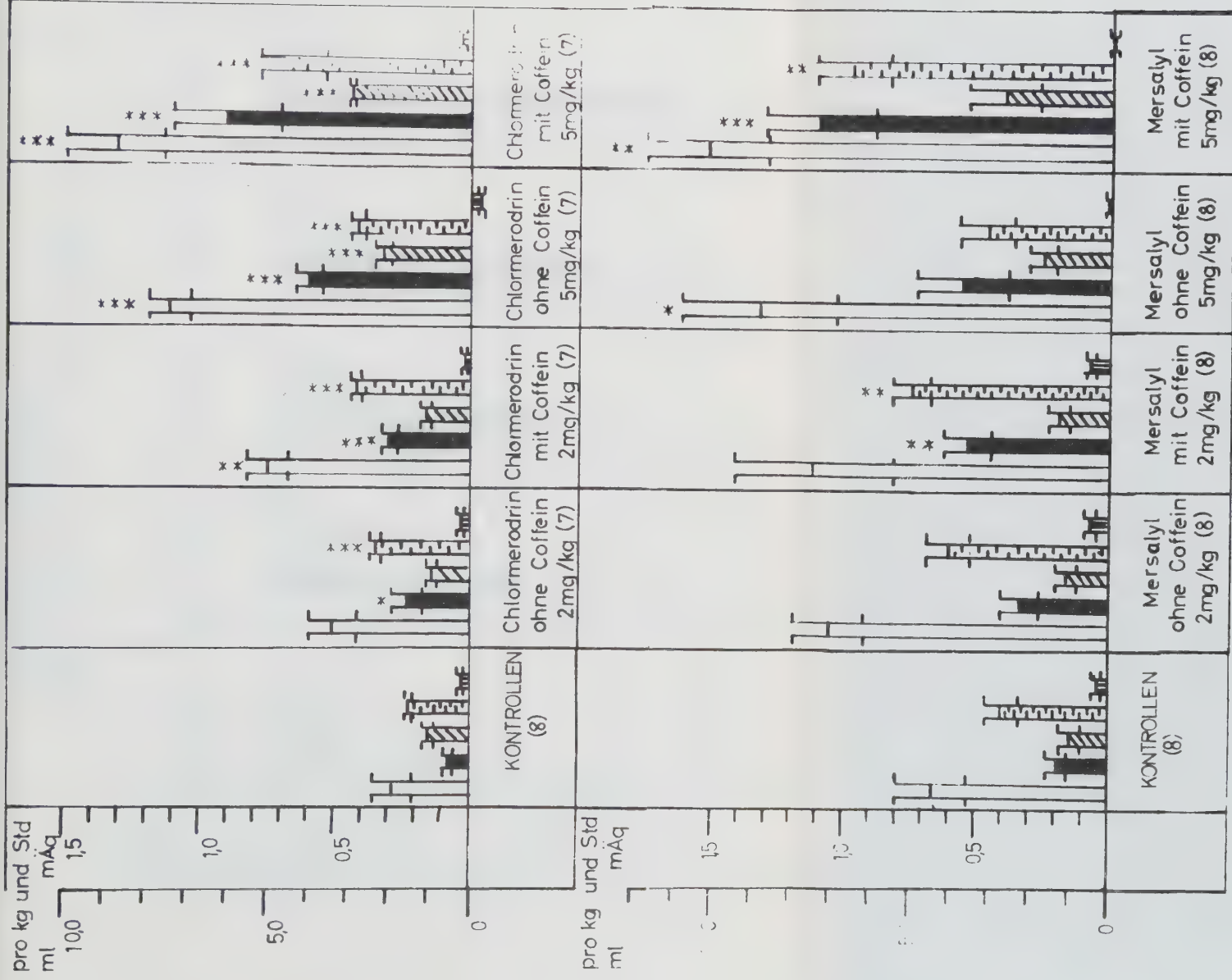


Abb. 1 und 2:
Einfluß von Chlormerodrin bzw. Mersalyl
mit und ohne Coffein auf die Wasser- und
Elektrolytausscheidung bei durstenden
Ratten.

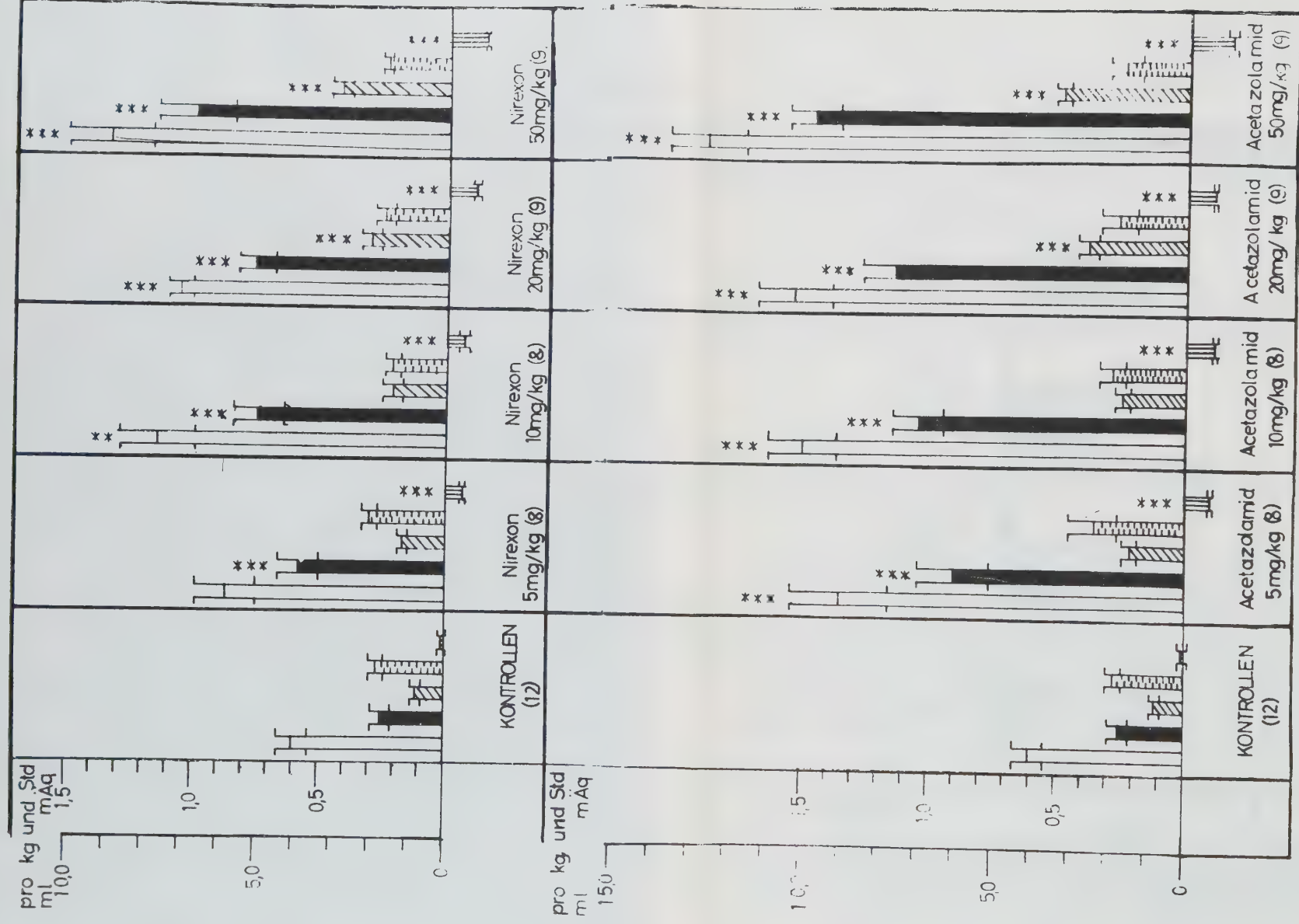


Abb. 3 und 4:
Einfluß von Nirexon bzw. Acetazolamid
auf die Wasser- und Elektrolytausschei-
dung bei durstenden Ratten.

Abb. 5

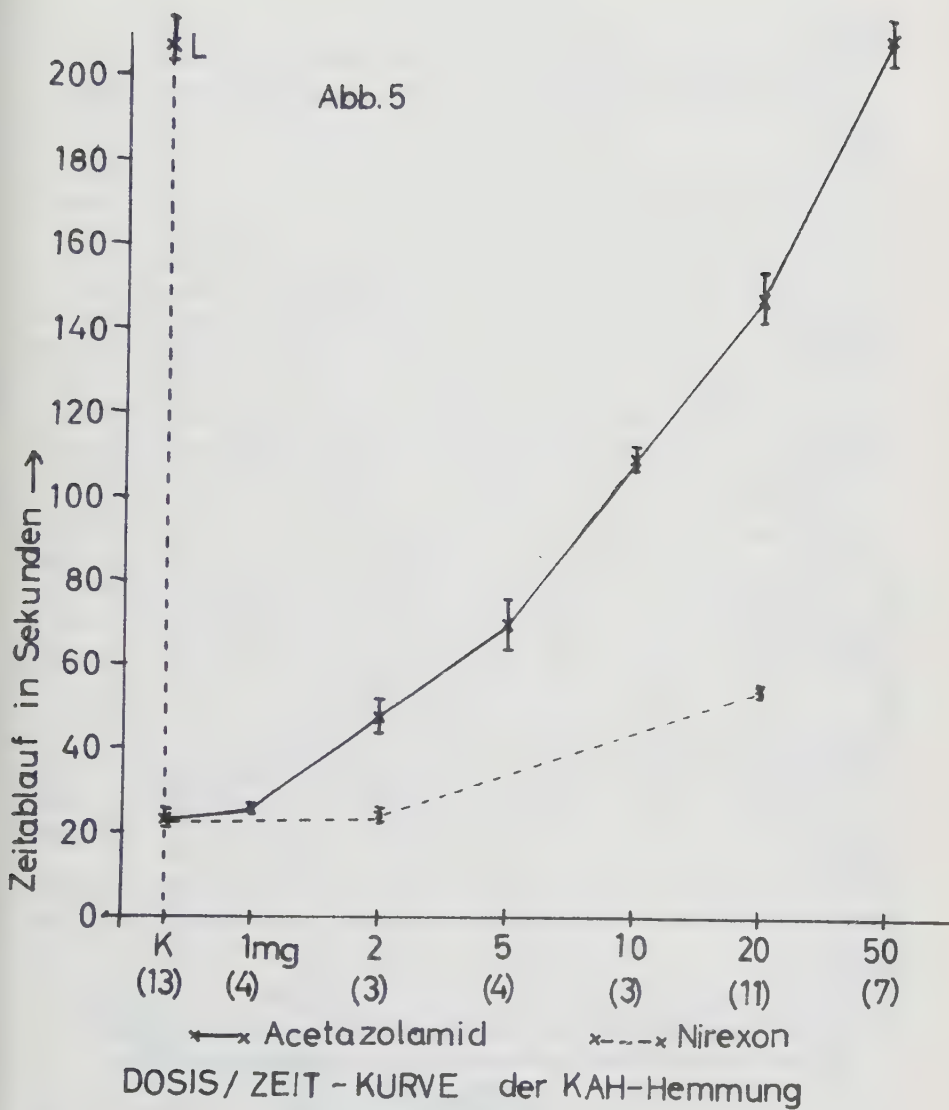
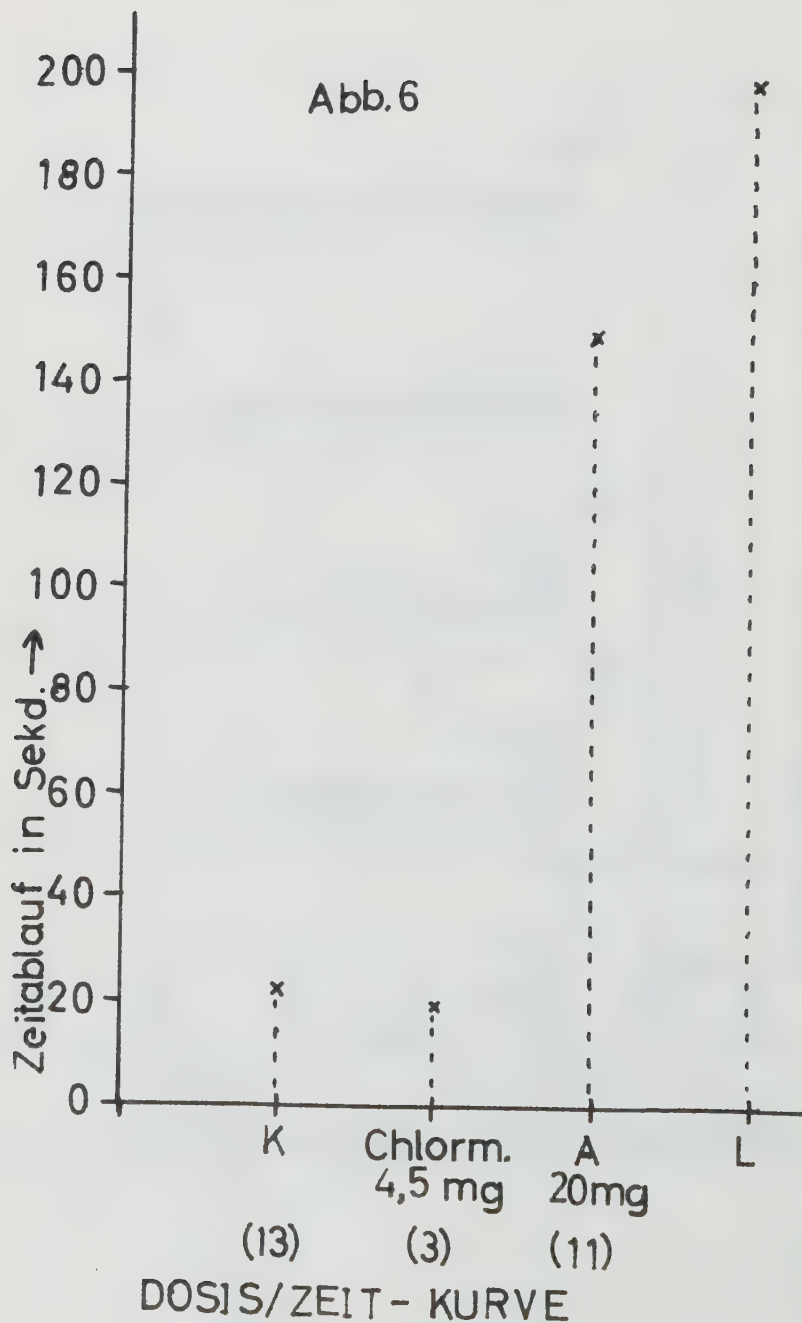


Abb.6



DISKUSSION

Diese Untersuchungen sind nicht dazu bestimmt, den Wirkungsmechanismus der Diuretica zu untersuchen, sondern ihre quantitative Wirkung auf die Wasser- und Salzausscheidung aufzuzeigen.

Die relativ geringe Wirkung der Purinderivate ist auch in der Klinik nachgewiesen worden.

Aus Tab.3 und Abb.1 ist zu entnehmen, daß Mersalyl in einer Dosis von 2 mg Hg/kg ohne Theophyllinzusatz keinen diuretischen oder natriuretischen Effekt zeigt (vgl. BRUNNER, H. 1959). Die gleiche Dosis unter Zusatz von Theophyllin läßt jedoch eine signifikante Steigerung der Natrium- und Chlorausscheidung erkennen; diese Wirkung ist nach einer Mersalyl-Dosis von 5 mg Hg/kg unter Zusatz von Theophyllin noch weiter verstärkt. Bei dieser Dosierung zeigt Mersalyl selbst bereits eine geringe diuretische Wirkung. Keinen Einfluß hat jedoch der Zusatz von Theophyllin auf die Wasserausscheidung.

In ähnlicher Weise verstärkt Theophyllin die Wirkung von Chlormerodrin (2 mg Hg/kg). Es kommt zu einer signifikanten Steigerung der Diurese und der Natriurese. Gegenüber Mersalyl wird nach Gaben von Chlormerodrin bei allen Dosierungen mit und ohne Theophyllin eine chloruretische Wirkung erzielt. Die wünschenswerte Verstärkung eines natriuretischen Effektes könnte somit durch Kopplung eines Purinderivates mit Quecksilberdiuretica erreicht werden.

Das Acetazolamid, das sich, wie bereits erwähnt, bei der Erforschung der Sulfonamide als Diureticum erwiesen hat, ist bei der Ratte den Quecksilberdiuretica weit überlegen in seiner Wirkung auf die Wasser- und Salzausscheidung. Die Nebenwirkungen sind relativ gering.

Schon die niedrige Dosis von 5 mg/kg Acetazolamid läßt eine sehr deutliche signifikante Steigerung der Wasser- und Natriumausscheidung erkennen, die bis zur 50 mg/kg-Dosis eine weitere Steigerung erfährt.

Der Vergleich mit Nirexon zeigt, daß Acetazolamid bei der Ratte eine stärkere Ausscheidung von Wasser und den untersuchten Elektrolyten im Harn bewirkt (vgl. Tab.5 und 6).

Wenn man die Dosis/Zeit-Kurve der KAH-Hemmstoffe betrachtet (Abb.5), fällt auf, daß die KAH-hemmende Wirkung des Nirexon weit unter der des Acetazolamids liegt; bereits die gleichen Dosierungen weisen starke Unterschiede im Ergebnis auf, auch wird die Zeit der höchsten Acetazolamid-

Dosis, die einer völligen KAH-Hemmung gleichkommt, niemals von der höchsten Nirexon-Dosierung erreicht. Auch diese Ergebnisse sprechen dafür, daß Acetazolamid unter den KAH-Hemmstoffen der Stoff ist, dessen Wirkung ausschließlich oder doch vorwiegend auf der KAH-Hemmung beruht.

Daß BRAUN-FALCO (1955) in seiner Arbeit zur Frage der spezifischen Hemmung der Nieren-KAH durch Acetazolamid zu einem negativen Ergebnis kommt, dürfte vermutlich an der für diese Untersuchungen ungeeigneten Methode liegen. Wir haben unter den gleichen Bedingungen den Versuch eines Nachweises zu führen versucht, kamen aber ebenfalls zu keinem positiven Ergebnis.

ZUSAMMENFASSUNG

An durstenden Ratten wurde die Wasser- und Salzausscheidung nach i.v.-Injektion verschiedener Diuretica ausgewertet. Es wurden 3 Gruppen von Diuretica getestet: Purinderivate, Quecksilberdiuretica und Karboanhydratase-(KAH) Hemmstoffe.

Die Purinderivate (Coffein 12.5, 25.0 und 50 mg/kg sowie Aminophyllin 12.5 und 50 mg/kg) bewirkten keine oder nur eine geringe Steigerung der Diurese.

Zur Gruppe der Hg-Diuretica gehörte Mersalyl und Chlormerodrin. Die 2 mg Hg/kg-Dosis ohne Theophyllinzusatz zeigte keinerlei Wirkung, dagegen die 2 mg Hg/kg-Dosis mit Theophyllin. Signifikante Steigerungen der Wasser-, Natrium- und Chloridausscheidung wurden nach der 5 mg Hg/kg-Dosis erreicht.

Von den Karboanhydratase-Hemmstoffen wurden Acetazolamid und Nirexon untersucht. Dabei zeigte sich Acetazolamid dem Nirexon in seinen Wirkungen überlegen.

In einer Dosis/Zeit-Kurve wurde die hemmende Wirkung der KAH-Hemmstoffe bei steigender Dosierung mit nicht KAH-hemmenden, diuretisch wirkenden Pharmaka verglichen.

LITERATURANGABEN

BRUNNER, H., G. KUSCHINSKY und G. PETERS:

Die Wirkung von Vasopressin auf die renale Wasser- und Salzausscheidung der Ratte bei Veränderungen der Salzkonzentration des Trinkwassers und nach Nierenparenchymresektion.

Arch.exper.Path.u.Pharmakol. 228, 434 (1956).

BLOMHERT, G., J. GERBRANDY, J. A. MOLHUYSEN, L. A. de VRIES and J. G. G. BORST:

Diuretic effect of isotonic saline solution compared with that of water. Influence of diurnal rhythm.

Lancet 261, 1011 (1951).

KUSCHINSKY, G.:

Methoden zur Prüfung diuretisch wirkender Stoffe.

Arch.exper.Path.u.Pharmakol. 238, 195 ff. (1960).

KURATA, Y.:

Stain Technol. 28, 231 (1953).

BRAUN-FALCO, O., B. RATHJENS:

Über die histologische Darstellung der KAH in normaler Haut.

Arch.f.exper.und klin.Dermatologie 201, 73 ff. (1955 a).

BRAUN-FALCO, O., B. RATHJENS:

Zur Frage spezifischer Hemmung der Nieren-Kohlensäureanhydratase im histologischen Schnitt durch 2-Acetylamino-1,3,4-Thiodiazol-5-Sulfonamid.

Acta histochem. 2, 39 ff. (1955 b).

CLARK und LUBS, zitiert bei J. R. GEIGY A. G., Basel:

Wissenschaftl. Tabellen (1955).

KUSCHINSKY, G. u. H. LANGECKER:

Eine mercurimetrische Bestimmung des Chlorids im Harn.

Biochem. Z. 318, 164 (1947).

HENDERSON, L. J. and W. W. PALMER:

The determination of titratable acidity in urine.

J. of Biol. Chem. 17, 305 (1914).

SNEDECOR, G. W. :

Statistical methods applied to experiments in agriculture and biology.
Ames, Iowa: The Iowa State College Press 1950.

GLOSTER, I. and E. S. PERKINS:

Carbonic Anhydrase in the Lens and Ciliary Body and Iris of Albino Rats.
J. Physiol. 130, 665 ff. (1955).

WIRTH, W. :

Ein neues Carboanhydrase hemmendes Diureticum (Nirexon).
DMW, S. 1908 (1957).

BRUNNER, H. :

Der Wirkungsmechanismus der Quecksilber-Diuretica.
DMW, S. 1854-1856 (1955).

BRUNNER, H. :

Renale Wasser- und Elektrolytausscheidung durstender Ratten innerhalb
von 32 Stunden nach einmaliger intravenöser Gabe von Chlormerodrin
und Mersalyl.

Arch. exper. Path. u. Pharmakol. 236, 521 (1959).

LEBENS LAUF

Am 9. März 1924 wurde ich als zweite Tochter des Studienrates Dr. phil. Johannes Liebke und dessen Ehefrau Gertrud Liebke, geb. Kretschmer, in Breslau geboren. Ich besuchte dort von 1930 bis 1934 die Volksschule, von 1934 bis 1938 das Oberlyceum von Bethanien und von 1938 bis 1942 die Oberschule für Mädchen von Cecilien, wo ich mein Abitur bestand.

April 1942 bis Oktober 1942 Krankenpflegepraktikum an der Universitäts-Kinderklinik in Breslau. November 1942 bis November 1943 RAD. WS 1943/44 und SS 1944 Medizinstudium in Breslau. Ab September 1944 Kriegseinsatz beim DRK. Nach mehrfachen Gelegenheitsarbeiten ab Dezember 1946 als Schwesternhelferin am Krankenhaus Weißwasser/Oberlausitz tätig bis Februar 1949. Von Februar 1949 bis Januar 1951 Ausbildung als chemisch-biologische Assistentin beim Lette-Verein in Berlin. Anschließend bis Oktober 1952 tätig als techn. Assistentin im Pharmakologischen Institut der Humboldt-Universität Berlin. Mit dem Sommer-Semester 1953 erneuter Beginn des Medizinstudiums im 3. Semester an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz. Dort am 14.11.1957 Staatsexamen. Pflichtassistentenzeit bis Juni 1960.

Vom 1.7.1960 bis 30.6.1962 Facharztausbildung an der Universitäts-Augenklinik in Tübingen. Ab 15.10.1962 Fortsetzung der Facharztausbildung an der Augenheilanstalt in Wiesbaden.

